Aus der Universitäts-Frauenklinik Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. Hans Roemer

Über die Heterogenität der Sogenannten Leucinaminopeptidase (LAP) beim Ovarialcarcinom des Menschen

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

KRISTIN PACHE
aus Hamburg

1969

Aus der Universitäts-Frauenklinik Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. Hans Roemer

Über die Heterogenität der Sogenannten Leucinaminopeptidase (LAP) beim Ovarialcarcinom des Menschen

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

KRISTIN PACHE
aus Hamburg

1969

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. med. J. Hirschmann
1. Berichterstatter: Dozent Dr. med. G. Jung
2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. H. Roemer

Herrn Dozent Dr. G. Jung danke ich für die Überlassung des Themas, und Herrn Dr. med. E. Kidess bin ich für seine freundliche Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit zu herzlichem Dank verpflichtet.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543901_0003

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	Einleitung	1
II.	Charakterisierung der LAP	1
III.	Bedeutung der LAP und Vorkommen	1
IV.	Klinische Bedeutung der LAP	2
V.	LAP in Krebsgewebe	2
VI.	Heterogenität der LAP	3
VII.	Themaerläuterung	3
VIII.	Methodik	4
IX.	Ergebnisse	8
	1. Versuchsprotokolle	8
	2. Die prozentuale Verteilung der Aktivität	19
	3. Höhe der spezifischen Aktivität	22
X.	Diskussion	24
XI.	Zusammenfassung	28
XII.	Literaturverzeichnis	29
XIII.	Lebenslauf	34

EINLEITUNG

Von JUNG und Mitarb. wurden die Enzyme des Ovars untersucht (25, 27). Danach sind die Enzyme in ihrer Aktivität von den Hypophysenhormonen beeinflußbar. Das Enzymmuster wird damit zum Ausdruck der Funktion des gesunden Ovars. Es bleibt die Frage, ob mit der krankhaften Veränderung des Ovars eine Änderung des Enzymmusters parallel geht. So wurde z.B. bei der LDH eine erheblich gegenüber der Norm veränderte Aktivität und Verschiebung der Isoenzyme im Ovarialcarcinom festgestellt (26). SCHWÄGERLE fand bei verschiedenen pathologisch veränderten Ovarien beim Adenocarcinom ovarii die größte LAP-Aktivität (46). Unter den verschiedenen Carcinomata des Ovars ist nach CHAN beim Granulosazelltumor die höchste Aktivität der sog. LAP festzustellen (10).

CHARAKTERISIERUNG DER L A P

Die Leucin-Aminopeptidase wurde zuerst 1929 von LINDERSTROM-LANG beschrieben (29). Sie zählt zu den Exopeptidasen (4). Die LAP ist nicht spezifisch für die Abspaltung von amino-endständigem Leucin. Abgespalten werden alle Aminosäuren mit aliphatischer Seitenkette. Die Aktivität ist proportional der Länge der aliphatischen Seitenkette (12, 14). Nach WALDSCHMIDT-LEITZ ist die LAP kein einheitliches Enzym, sondern stellt ein Gemisch aus Di- und Polypeptidasen dar (53). Aktivatoren sind Mn^{++} und Mg^{++}, Ag^{+} ist stärkster Inhibitor (16). Das pH-Optimum liegt bei 7,2 - 7,5 (5). Die LAP wurde 1955 von SPACKMANN und SMITH aus Schweinenieren isoliert und das Molekulargewicht mit 300 000 angegeben (49). HANSON und GLÄSER isolierten die LAP aus Rinderaugenlinsen (21).

BEDEUTUNG DER L A P UND VORKOMMEN

Über die Bedeutung der LAP im Stoffwechsel ist bis jetzt wenig bekannt. Es besteht aber ein Zusammenhang zwischen EWStoffwechsellage und Peptidaseaktivität. Welcher Art dieser Zusam-

menhang ist, ist noch nicht geklärt (20). Man fand z.B. bei dystrophischen Kindern eine hohe LAP Aktivität, die bei entsprechender Diät wieder normal wurde (35).
Vermutlich ist die LAP an der Endphase der Eiweißaufspaltung beteiligt (17).
Das Enzym findet sich in verschiedenen Körperflüssigkeiten wie Serum, Galle, Urin und Liquor und in Geweben (3,6,7,8,15,19,23, 24,25,28,29,36,37,38,43,45,55). JUNG und SCHWÄGERLE beschrieben die LAP des gesunden Ovars (25,46).

KLINISCHE BEDEUTUNG DER L A P

Nach PINEDA und GOLDBARG ist die Leber in erster Linie verantwortlich für die Serum-LAP (40). Über die diagnostische Bedeutung der LAP-Aktivität im Serum bei Leber, Galle- und Pankreaserkrankungen liegt umfangreiches Material vor (17,33,41,42,44,47, 51). Die Serum-LAP kann zwar im Rahmen anderer Untersuchungen zur Diagnose beitragen - sie ist erhöht vorwiegend bei Hepatitis, extra- und intrahepatischem Verschlußikterus und Lebertumoren - über Malignität und Gutartigkeit gibt sie keinen Aufschluß (42). Während der Schwangerschaft ist ein erhöhter LAP-Spiegel im Serum zu finden (34,55).

L A P IM KREBSGEWEBE

Histochemische Untersuchungen ergaben, daß die LAP vorwiegend im Stromabindegewebe und den Randpartien von malignen Tumoren zu finden ist (9,23,24,50). Dieses Verhalten ist nicht auf Diffusion zurückzuführen (23). Nach Sylvan B.H.MALMGREEN ist die LAP in den Randpartien wahrscheinlich für das infiltrierende Wachstum durch Proteolyse verantwortlich (50).
Metastatisches Gewebe zeigt meist eine Übereinstimmung mit dem Primärtumor hinsichtlich der LAP Aktivität (15).
M.E.LONG fand bei der histochemischen Untersuchung von Adenocarcinomen des Ovars, daß die LAP Aktivität in bösartigen

Tumoren höher war als in gutartigen. Sie ist aber höher in den Metastasen als in den Primärtumoren (30).

HETEROGENITÄT DER L A P

Die Heterogenität der LAP ist von verschiedenen Autoren mit Hilfe elektrophoretischer Auftrennung, Gelfiltration, Ionenaustauschchromatographie oder der Sedimentationsgeschwindigkeit in der Ultrazentrifuge untersucht worden, wobei kein einheitliches Ergebnis in bezug auf die Zahl der Isoenzyme gefunden werden konnte (2,3,11,13,28,32,37,44,47,48,52,54). Nach PATTERSON et al. können auch Enzyme mit niedrigerem Molekulargewicht als die LAP das auch von uns verwandte Substrat L-Leucyl-ß-Naphthylamid spalten. Sie unterscheiden sich außerdem von der LAP durch Stabilität, pH-Optimum und der Beeinflußung durch Metallionen (39).
MAHLER kam bei der Auftrennung von homogenisiertem Gewebe des Schweineovars an DEAE-Sephadexsäulen zu dem Schluß, daß es sich bei denen von ihm gefundenen 5 Fraktionen um verschiedene Enzyme handelt, die alle LEUNA hydrolysieren, aber nicht von Mg und Mn Ionen aktiviert werden wie die LAP (31). Wir nennen die LEUNA spaltenden Enzyme die 'sog, LAP'.
HANSON et al. konnten in einem 5 stufigem Verfahren ein von der LAP unterschiedliches LEUNA spaltendes Enzym aus vereinigter Mikrosomen-Mitochrondrienfraktion der Schweineniere isolieren, das er Partikelaminopeptidase nannte (22).

THEMAERLÄUTERUNG

Es soll in dieser Arbeit untersucht werden, welches Verhalten die LEUNA hydrolysierenden Enzyme bei der Fraktionierung mit Hilfe von DEAE-Sephadex-Säulenchromatographie zeigen. Die Untersuchungen werden durchgeführt beim Ovarialcarcinom, und zwar im homogenisierten Tumorgewebe, in den Metastasen, im Serum und im Ascites, der in 31 % der Fälle beim Ovarialneoplasma zu finden ist (1).

Tab. 1

Folgende Fälle wurden untersucht:

1. Edith A.	30 Jahre,	Leiomyosarkom des Ovars
2. Barbara B.	65 Jahre,	drüsig wachsendes Ovarialcarcinom
3. Maria G.	62 Jahre,	papilläres Adenocarcinom des Ovars
4. Josefine H.	70 Jahre,	papilläres Adenocarcinom des Ovars
5. Lucia H.	63 Jahre,	papilläres Kystadenocarcinom des Ovars
6. Elisabeth H.	42 Jahre,	solides, cystisches Adenocarcinom des Ovars
7. Elisabeth K.	68 Jahre,	solid wachsendes Carcinom des Ovars
8. Maria L.	72 Jahre,	überwiegend papillär wachsendes Adenocarcinom der Tube mit soliden Anteilen
9. Walburga L.	56 Jahre,	teils adenoid, teils solid wachsendes Adenocarcinom des Ovars
10.Maria Sch.	68 Jahre,	Adenocarcinom des Colons, metastasierend
11.Martha Sch.	55 Jahre,	pseudomucinöses papillär wachsendes Kystadenocarcinom des Ovars
12.Elisabeth Sch.	50 Jahre,	Adenoakanthom
13.Lina S.	66 Jahre,	Adenocarcinom des Ovars
14.Renate S.	52 Jahre,	papillär wachsendes Adenocarcinom des Ovars
15.Elisabeth S.	70 Jahre,	hauptsächlich solides, teilweise drüsiges Adenocarcinom des Ovars
16.Therese W.	41 Jahre,	Erythrocytenkontrolle
17.M.		Erythrocytenkontrolle

METHODIK

Ascites wurde steril entnommen, bei 30 00 Umdrehungen/min. 30 Minuten zentrifugiert und bei -20 Grad Celsius eingefroren. Nach dem Auftauen wurden 10 ml auf die Säule aufgetragen. Blut wurde entnommen, bei 3 000 Umdrehungen zentrifugiert und der Überstand (Serum) bei -20 Grad eingefroren. Nach dem Auftauen wurden 5 ml auf die Säule aufgetragen. Blut bzw. Serum und Ascites waren hämolysefrei.
Die Ovarien und Metastasen wurden sofort nach der Operation bei -20 Grad bis zur Aufarbeitung eingefroren. Das Gewebe wurde dann aufgetaut, gewogen und mit der Schere so klein wie möglich geschnitten. Das Gewebe wurde dann mit 5 Gewichtsteilen K- Phosphatpuffer (pH 7,2) vermischt und in einem Glas-Homogenisator nach POTTER homogenisiert. Der Gewebebrei wurde durch ein Spezialtuch gesiebt, um ihn von groben Gewebeanteilen und Bindegewebe zu trennen. Das Filtrat wurde in der Ultrazentrifuge bei 30 000 g eine Stunde lang zentrifugiert. Vom Überstand (Zytoplasma) wurden 5 ml auf die Säule aufgetragen.
Erythrocyten wurden 5 mal in 0,9 % NaCl gewaschen.

Die säulenchromatographische Auftrennung erfolgte an DEAE-Sephadex A-50 (Deutsche Pharmacia, Frankfurt/Main). Das Gel wurde entsprechend den Vorschriften behandelt und mit K-Phosphatpuffer (pH 7,2) äquilibriert.
Höhe des Gelbettes: 20 cm
Durchmesser der Säule: 1.7 cm

Mit einer Pipette wurden 5 - 10 ml der verwandten Untersuchungsprobe auf die Säule aufgetragen und anschließend in 5 Stufen eluiert.

I.	0.05 m Kalium - Phosphat - Puffer (pH 7,2)	60 ml
II.	0.05 m NaCl in 0,05 m Kalium-Phosphat-Puffer	50 ml
III.	0.10 m NaCl in 0,05 m Kalium-Phosphat-Puffer	50 ml
,IV.	0.20 m NaCl in 0,05 m Kalium-Phosphat-Puffer	50 ml
V.	0.50 m NaCl in 0,05 m Kalium-Phosphat-Puffer	50 ml

Die Fraktionen wurden in einem Fraktionssammler (Radi Rac Fraction Collector Type 3 402 B) zu jeweils 5 ml aufgefangen. Es wurde in den einzelnen Fraktionen die Aktivität der sog. LAP und der Proteingehalt gemessen.
Messung des Proteingehaltes erfolgte mit dem Zeiss-Photometer M4 QII bei 280 nm.
Messung des Stickstoffes in den Ausgangs-Substraten erfolgte nach der Methode von KJELDAHL unter Benutzung einer Modifikation nach BEET. Bei dieser Methode erfolgt die Veraschung unter Zugabe von konzentrierter Schwefelsäure und Kaliumpermanganat als Katalysator. Die Destillation wird in einer Vorlage mit 30 ml bidest. Wasser nach den Standardangaben, die Titration mit n/50 Salzsäure gegen einen Tashiro-Indikator durchgeführt.

1. Messung der LAP Aktivität:

Zugrunde liegt der Test nach BERNT-BERGMEYER (5). Die sog. LAP katalysiert die Reaktion:

$$\text{L-Leucyl-ß-Naphthylamin} + H_2O \quad \text{Leucin} + \text{ß-Naphthylamin}$$

Freigesetztes ß-Naphthylamin wird mit Diazoniumsalz Echtrot 3 GL zu einem roten Farbstoff gekuppelt, der mit Essigsäureäthylester ausgeschüttelt und bei 492 nm im Eppendorf-Photometer gemessen wird.
Die pro Zeiteinheit freigesetzte ß-Naphthylaminmenge ist ein Maß für die Enzymaktivität.

2. Notwendige Reagentien:

a) Kaliumdihydrogenphosphat KH_2PO_4 (Merck 4873)
b) Dikaliumhydrogenphosphat K_2HPO_4 (Merck 5100)
c) L-Leucyl-ß-Naphthylaminhydrochlorid (Dr.Th.Schuchardt, München)
d) Echtrot 3 GL (diazotiertes 3-Chlor-4-Nitranilin)(Boehringer,Mannh.)
e) Perchlorsäure p.a. Dichte 1,67; ca 70 %
f) Essigsäureäthylester
g) ß-Naphthylamin

3. Herstellen der Lösungen:

I. Phosphatpuffer (0,05 m; pH 7,2)
72,6 ml 0.05 m K_2HPO_4 werden mit 27,4 ml 0.05 m KH_2PO gemischt und der pH-Wert mit der Glaselektrode kontrolliert.

II. L-Leucyl-ß-Naphthylaminhydrochlorid
15 mg L-Leucyl-ß-Naphthylamin wurden in 2,5 ml aqua bidest gelöst.

III. LAP-Reagenz
Lösung II wurde in 50 ml Phosphatpuffer gelöst.

IV. Chromogen
Vor jeder Bestimmungsserie wurden 20 mg Echtrot 3 GL in 20 ml aqua bidest. gelöst.

V. ß-Naphthylamin-Lösung für die Eichkurve
100 mg ß-Naphthylamin wurden in einem 500 ml Meßkolben mit 96 % vergälltem Alkohol gelöst und bis zur Marke mit Alkohol aufgefüllt.

VI. Perchlorsäure (ca 0.6 m)
5 ml 70 % Perchlorsäure wurden mit aqua bidest. auf 100 ml verdünnt.

Das LAP-Reagenz (Lösung III) ist in dunkler Flasche bei 4°C mindestens 4 Wochen haltbar. Chromogen muß vor jeder Testserie frisch hergestellt werden, da es instabil ist. Alle anderen Lösungen sind bei Zimmertemperatur haltbar.

4. Eichkurve

Die ß-Naphthylaminstandardlösung (V) enthält 200 y/ml. Es wurden 0.05 ml entsprechend 10 y und 10 ml, entsprechend 20 y ß-Naphthylamin eingesetzt und gegen einen Leerwert gemessen.
In ein 10 ml Zentrifugenglas wurden nacheinander pipettiert:

0.50 ml aqua bidest.
0.05 bzw. 0.10 ml ß-Naphthylaminstandardlösung (V)
0.50 ml Perchlorsäure (VI)
1.00 ml Chromogen-Lösung (IV)

Der Ansatz wurde 10 min bei Raumtemperatur stehengelassen, dann 5.00 ml Essigsäureäthylester zugegeben und wie unter Bestimmungsansatz beschrieben weiterverarbeitet. Die Extinktion (Ordinate) wurden gegen y ß-Naphthylamin (Abszisse) aufgetragen.

	10 y ß-Na.		20 y ß-Na.
E 492 nm	0.202	E 492 nm	0.400
	0.199		0.406
	0.200		0.398
	0.203		0.396
	0.201		0.400

5. Arbeitsweise:

Testvolumen 3,5 ml; Inkubationszeit: 1 Stunde;
Inkubationstemperatur: 37° C

Jede Messung erfolgt gegen einen Leerwert.

Um die Eigenhydrolyse des L-Leucyl-ß-Naphthylamins zu berücksichtigen, wurde der Leerwert folgendermaßen angesetzt: statt des Säuleneluats wurde 1 ml Puffer zugegeben und wie unter Bestimmungsansatz beschrieben weiterverarbeitet.
Ein Leerwert, bei dem das Substrat (Lösung III) durch Puffer ersetzt wurde, zeigte keine Extinktion.

In ein 10 ml Zentrifugenglas wurden nacheinander pipettiert:
2.50 ml LAP-Reagenz (Lösung III)
1.00 ml eluierte Franktion
Der Ansatz wurde gemischt und 1 Stunde bei 37°C inkubiert.
Dann wurde zur Eiweißfällung
2.50 ml Perchlorsäure (Lösung VI)
zugegeben, gemischt und 5 min bei ca 3 000 U/min zentrifugiert.
1.00 ml des Überstandes
1.00 ml Chromogenlösung (IV)
wurden gemischt und 10 min bei Raumtemperatur stehengelassen.
5.00 ml Essigsäureäthylester
wurden zugegeben, 30 sec kräftig geschüttelt und bei 3 00 U/min

kurz zentrifugiert. Die überstehende Lösung wurde mit einer Pipette in eine trockene oder mit Alkohol ausgespülte Küvette gebracht und bei 492 nm gegen den Leerwert gemessen (Schichtdicke 1 cm) (Photometer Eppendorf). Für die gemessene Extinktion wurde die zugehörige Menge y ß-Naphthylamin aus der Eichkurve entnommen.

6. Berechnung der spezifischen Aktivität:

Die spezifische Aktivität wurde in y ß-Naphthylamin/mgProt/Std wie folgt berechnet:
Bei 1 ml der eluierten Fraktion in 3,5 ml Testvolumen (1 ml eluierte Fraktion 3 2.50 ml LAP-Reagenz) und einer Verdünnung (durch Enteiweißung mit 2.50 ml Perchlorsäure) von 3.5 : 6.0 ist die aus der Eichkurve abgelesene Menge ß-Naphthylamin mit $\frac{3.5 \times 6}{3.5} = 6$ (Testvolumen x Verdünnung) zu multiplizieren.
Somit ergibt sich die spezifische Aktivität als:

$$y\ \text{ß-Naphthylamin/mgProt/Std (37 c)} = \frac{y\text{ßNa aus der Eichkurve}}{\text{mg Prot}}$$

ERGEBNISSE

1. Versuchsprotokolle: (Tab. 2 a-e)

Für die Untersuchungen an Zytoplasma, Ascites, Serum und Erythrocyten sind repräsentative Tabellen angeführt. Dabei gibt die erste Spalte den prozentualen Anteil der Fraktion an der Gesamtaktivität an, die zweite die fortlaufende Nummer der getesteten Fraktion an. Die dritte Spalte zeigt die gemessene Enzymaktivität, die vierte die mg Protein/ml und die fünfte Spalte gibt die spezifische Aktivität wieder. Zur Anschaulichkeit der Tabellen dienen die Kurven. Das Elutionsprofil der Metastasen variiert erheblich. Daher ist das angeführte Beispiel nicht repräsentativ für den Gesamtdurchschnitt.

Tab. 2 a

Gewebe von Lucia H., 63 Jahre, Kystadenoma ovarii

% Anteil an der Gesamtaktivität	lfd Nr.	E_{492}	mg Prot.	spez.Aktiv.
	1	0.030	0.016	562.500
	2	0.028	0.184	45.652
	3	0.052	1.510	10.331
	4	0.035	1.300	8.076
	5	0.020	0.550	10.909
I	6	0.022	0.534	12.359
	7	0.018	0.625	8.640
13 %	8	0.020	0.400	15.000
	9	0.038	0.454	25.110
	10	0.030	0.450	20.000
	11	0.040	0.265	45.283
	12	0.038	0.133	85.714
	13	0.044	0.108	122.222
	14	0.044	0.138	95.652
	15	0.042	0.448	28.125
	16	0.055	0.127	129.921
	17	-	0.088	-
	18	0.005	0.198	7.575
	19	0.019	0.197	28.934
	20	0.014	0.137	30.656
II	21	0.010	0.106	28.301
1.3 %	22	0.005	0.098	15.306
	23	0.010	0.088	34.090
	24	-	0.061	-
	25	-	0.045	-
	26	-	0.036	-
III	27	-	0.075	-
0 %	28	-	0.226	-
	29	-	0.213	-
	30	-	0.146	-
	31	-	0.101	-
	32	-	0.082	-

Gewebe von Lucia H., 63 Jahre, Kystadenoma ovarii

Fortsetzung:

% Anteil an der Gesamtaktivität	lfd Nr.	E_{492}	mg Prot	spez.Aktiv.
	33	-	0.086	-
	34	0.005	0.059	25.432
	35	-	0.060	-
IV	36	0.005	0.096	15.625
1 %	37	0.007	0.161	13.043
	38	0.025	0.605	12.396
	39	-	0.870	-
	40	-	0.686	-
	41	-	0.351	-
	42	-	0.192	-
	43	-	0.160	-
	44	-	0.087	-
	45	0.005	0.097	15.463
V	46	0.990	0.250	1188.000
84,6 %	47	1.060	0.818	388.753
	48	1.025	0.327	940.366
	49	0.560	0.146	1150.684
	50	-	0.096	-
	51	-	0.072	-
	52	-	0.049	-

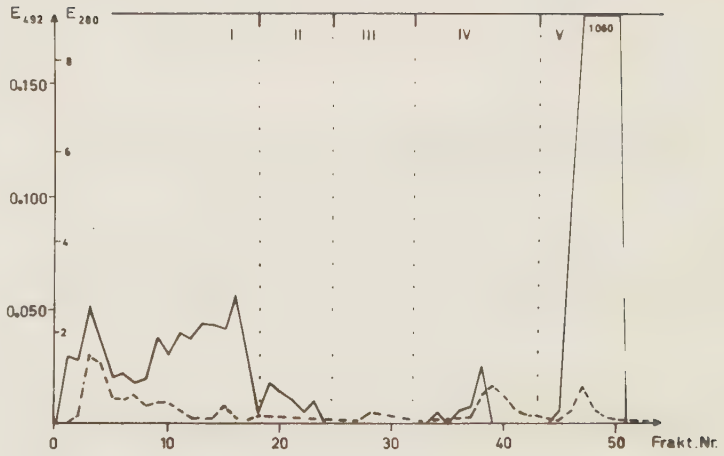


Abb. 1: Fraktionierung von Cytoplasma an DEAE-Sephadex A 50. Bestimmung der LAP-Aktivität nach VIII,6. Bestimmung des Proteingehaltes durch Messen der UV-Absorption bei 280 nm. —— = E_{492}. --- = E_{280}. Unterteilung des Elutionsprofils in Gruppen siehe Text.

Tab. 2 b

Metastase (Netzgewebe) von Elisabeth S., 70 Jahre, solid wachsendes Carcinom

% Anteil an der Gesamtaktivität	lfd Nr.	E_{492}	mg Prot.	spez.Aktiv.
	1	0.005	0.008	187.500
	2	0.005	0.006	250.000
	3	0.010	0.350	8.571
I	4	0.020	0.880	6.818
6.7 %	5	-	0.462	-
	6	-	0.173	-
	7	-	0.168	-
	8	-	0.147	-
	9	0.005	0.822	1.824
	10	0.006	0.038	47.368
II	11	0.010	0.020	150.000
17.0 %	12	0.010	0.007	428.571
	13	0.013	0.005	780.000
	14	0.012	0.122	29.508
	15	0.016	0.024	200.000
	16	0.020	0.052	115.384
	17	0.009	0.048	56.250
	18	0.014	0.040	105.000
	19	0.021	0.056	112.500
III	20	0.017	0.040	127.500
	21	0.014	0.035	120.000
17.4 %	22	0.013	0.026	150.000
	23	0.012	0.029	124.137
	24	0.012	0.027	133.333
	25	-	0.036	-

Metastase (Netzgewebe) von Elisabeth S., 70 Jahre, solid wachsendes Carcinom

Fortsetzung:

% Anteil an der Gesamtaktivität	lfd Nr.	E_{492}	mg Prot.	spez.Aktiv.
	26	0.005	0.017	88.235
	27	0.005	0.032	46.875
	28	0.005	0.068	22.058
	29	0.006	0.058	31.034
IV	30	-	0.048	-
	31	0.010	0.042	71.428
25.8 %	32	0.015	0.040	112.500
	33	0.010	0.030	100.000
	34	0.012	0.036	100.000
	35	0.015	0.028	160.714
	36	0.013	0.033	118.181
	37	0.011	0.122	27.049
	38	0.015	0.217	20.737
	39	0.016	0.174	27.586
	40	0.015	0.149	30.201
	41	-	0.116	-
	42	-	0.092	-
	43	-	0.078	-
	44	-	0.052	-
	45	-	0.050	-
V	46	0.120	0.060	600.000
	47	-	0.137	-
32.9 %	48	0.025	0.172	43.604
	49	0.035	0.084	125.000
	50	0.010	0.054	55.555
	51	0.005	0.039	38.461
	52	-	0.046	-

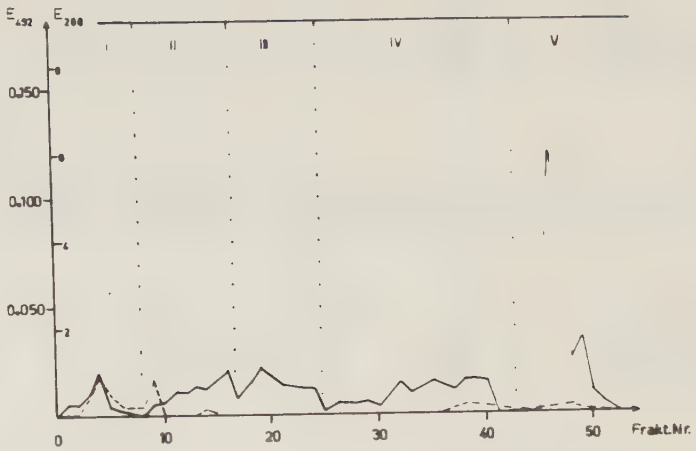


Abb. 2: Fraktionierung von Netzgewebe an DEAE-Sephadex A 50. Bestimmung der LAP-Aktivität nach VIII,6. Bestimmung des Proteingehaltes durch Messen der UV-Absorption bei 280 nm. —— = E_{492}. --- = E_{280}. Unterteilung des Elutionsprofils in Gruppen siehe Text.

Tab. 2 c

Ascites von Barbara B., 65 Jahre, Adenocarcinoma ovarii

Ascites vom 23.9.66

% Anteil an der Gesamtaktivität	lfd Nr.	E_{492}	mg Prot.	spez. Aktiv.
	1	0.006	0.031	58.064
	2	0.010	0.624	4.807
I	3	0.022	5.580	1.182
	4	0.023	7.000	0.985
9.8 %	5	0.020	3.690	1.626
	6	0.035	5.030	2.087
	7	0.027	3.190	2.539
	8	0.013	1.340	2.910
	9	-	0.478	-
	10	-	0.322	-
	11	0.006	0.364	4.945
	12	-	0.528	-
	13	0.009	0.810	3.333
	14	0.019	1.090	5.229
	15	-	1.360	-
	16	-	1.660	-
II	17	0.014	2.325	1.806
8.1 %	18	0.013	1.890	2.063
	19	0.009	1.130	2.389
	20	0.011	1.010	3.267
	21	0.007	0.505	4.158
	22	0.010	0.425	7.058
	23	0.010	0.299	10.033
	24	0.014	0.241	17.427
	25	0.006	0.203	8.866
	26	0.012	0.188	19.148

Ascites von Barbara B., 65 Jahre., Adenocarcinoma ovarii

Ascites vom 23.9.66

Fortsetzung:

% Anteil an der Gesamtaktivität	lfd Nr.	E_{492}	mg Prot.	spez. Aktiv.
	27	0.020	0.186	32.258
	28	0.013	0.277	14.079
	29	0.015	0.396	11.363
III	30	0.025	0.511	14.677
	31	0.027	0.705	11.489
11.6 %	32	0.023	1.275	5.411
	33	0.020	1.130	5.309
	34	0.023	1.460	4.726
	35	0.015	1.920	2.343
	36	0.011	2.080	1.586
	37	0.026	2.400	3.250
	38	0.170	3.960	12.878
	39	0.210	5.360	11.753
IV	40	0.255	5.220	14.655
	41	0.155	5.030	9.244
67.2 %	42	0.150	3.680	12.228
	43	0.055	2.280	7.236
	44	0.045	1.131	11.936
	45	0.045	0.850	15.882
	46	0.016	0.622	7.717
	47	0.014	0.648	6.481
V	48	0.024	1.150	6.260
	49	-	1.350	-
3.3 %	50	-	0.840	-
	51	-	0.448	-
	52	-	0.257	-
	53	-	0.178	-
	54	-	0.138	-

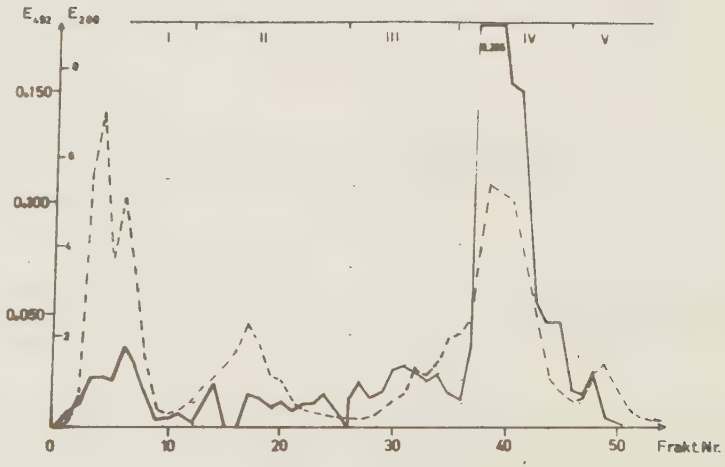


Abb. 3: Fraktionierung von Ascites an DEAE-Sephadex A 50. Bestimmung der LAP-Aktivität nach VIII,6. Bestimmung des Proteingehaltes durch Messen der UV-Absorption bei 280 nm. —— = E_{492}. --- = E_{280}. Unterteilung des Elutionsprofils in Gruppen siehe Text.

Tab. 2 d

Serum von Walburga L., 56 Jahre, Adenocarcinoma ovarii

% Anteil an der Gesamtaktivität	lfd Nr.	E_{492}	mg Prot.	spez. Akt.
	1	0.009	0.245	11.020
	2	0.010	1.110	2.702
	3	0.010	5.820	0.515
I	4	0.008	2.100	1.142
4.5 %	5	0.012	1.980	1.818
	6	0.015	2.790	1.612
	7	0.012	1.140	3.157
	8	0.010	0.420	7.142
	9	-	0.282	-
	10	-	0.194	-
	11	-	0.192	-
	12	-	0.240	-
	13	-	0.354	-
	14	-	0.520	-
II	15	-	0.732	-
8.6 %	16	-	0.740	-
	17	0.010	0.859	3.492
	18	0.019	0.596	9.563
	19	-	0.515	-
	20	-	0.435	-
	21	0.090	0.304	88.815
	22	0.010	0.226	13.274
	23	0.015	0.190	23.684
	24	0.012	0.162	22.222
	25	0.005	0.148	10.135

Serum von Walburga L., 56 Jahre, Adenocarcinoma ovarii

Fortsetzung:

% Anteil an der Gesamtaktivität	lfd Nr.	E_{492}	mg Prot.	Spez.Aktiv.
	26	0.015	0.144	31.250
	27	0.020	0.260	23.076
	28	0.024	0.430	16.744
	29	0.094	0.618	45.631
III	30	0.021	0.666	9.459
14.5 %	31	0.024	0.840	8.571
	32	0.013	1.111	3.510
	33	0.020	1.400	4.285
	34	0.014	1.510	2.781
	35	0.016	1.510	3.178
	36	0.011	1.600	2.062
	37	0.086	2.720	9.485
	38	0.390	5.270	22.201
	39	0.359	5.180	20.791
IV	40	0.264	3.700	21.486
	41	0.180	2.130	25.352
71.1 %	42	0.015	1.350	3.333
	43	0.005	0.859	1.746
	44	0.013	0.575	6.782
	45	0.010	0.424	7.075
	46	0.008	0.361	6.648
	47	0.006	0.615	2.926
	48	0.010	1.025	2.926
V	49	0.005	0.695	2.158
	50	-	0.335	-
1.1 %	51	-	0.218	-
	52	-	0.158	-
	53	-	0.133	-

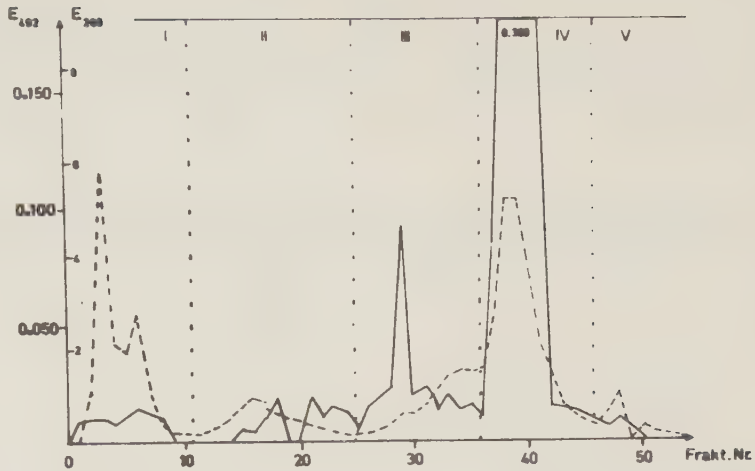


Abb. 4: Fraktionierung von Serum an DEAE-Sephadex A 50. Bestimmung der LAP-Aktivität nach VIII,6. Bestimmung des Proteingehaltes durch Messen der UV-Absorption bei 280 nm. —— = E_{492}. --- = E_{280}. Unterteilung des Elutionsprofils in GGruppen siehe Text.

Tab. 2 e

Gewaschene, homogenisierte Erythrocythen einer Patientin mit Ovarialcarcinom

% Anteil an der Gesamtaktivität	lfd Nr.	E_{492}	mg Prot.	Spez.Aktiv.
	1	0.312	0.046	78.260
	2	0.020	1.030	5.825
	3	0.025	29.400	0.255
	4	0.014	31.800	0.132
I	5	0.006	8.700	0.206
	6	0.005	2.320	0.646
38.0 %	7	0.005	0.956	1.569
	8	0.005	0.530	2.830
	9	0.005	0.338	4.437
	10	-	0.172	-
	11	-	0.182	-
	12	-	0.114	-
	13	-	0.076	-
	14	-	0.006	-
	15	-	0.058	-
	16	-	0.052	-
	17	-	0.050	-
II	18	-	0.050	-
0 %	19	-	0.065	-
	20	-	0.067	-
	21	-	0.046	-
	22	-	0.034	-
	23	-	0.035	-
	24	-	0.024	-
	25	-	0.025	-
	26	-	0.023	-

Gewaschene, homogenisierte Erythrocythen einer Patientin mit Ovarialcarcinom

Fortsetzung:

% Anteil an der Gesamtaktivität	lfd Nr.	E_{492}	mg Prot.	Spez.Aktiv.
	27	-	0.023	-
	28	-	0.025	-
	29	-	0.042	-
III	30	-	0.047	-
0 %	31	-	0.058	-
	32	-	0.064	-
	33	-	0.084	-
	34	-	0.082	-
	35	-	0.071	-
	36	-	0.056	-
	37	-	0.059	-
	38	-	0.011	-
	39	-	0.110	-
IV	40	-	0.122	-
2.8 %	41	0.022	0.178	37.078
	42	0.006	0.147	12.244
	43	-	0.093	-
	44	-	0.064	-
	45	-	0.058	-
	46	-	0.051	-
	47	-	0.055	-
V	48	0.130	0.254	153.543
50.9 %	49	-	0.114	-
	50	-	0.052	-
	51	-	0.034	-
	52	-	0.032	-

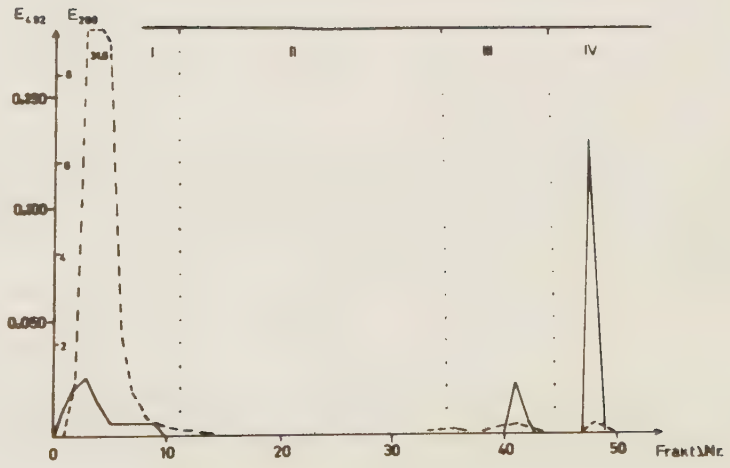
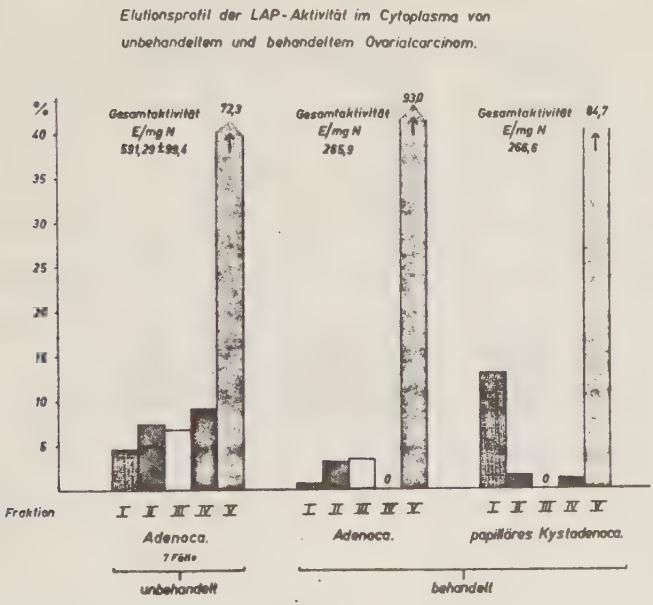


Abb. 5: Fraktionierung von homogenisierten Erythrocyten an DEAE-Sephadex A 50. Bestimmung der LAP-Aktivität nach VIII,6. Bestimmung des Proteingehaltes durch Messen der UV-Absorption bei 280 nm. —— = E_{492}. --- = E_{280}. Unterteilung des Elutionsprofils in Gruppen siehe Text.

2. Die prozentuale Verteilung der Aktivität:

Die LAP wurde bei 9 Patientinnen im Cytoplasma bestimmt. Von ihnen waren 2 mit Endoxan behandelt, 7 unbehandelt. Abb. 6 zeigt das Elutionsprofil der LAP-Aktivität im Cytoplasma von behandeltem und unbehandeltem Ovarialcarcinom.

Abb. 6



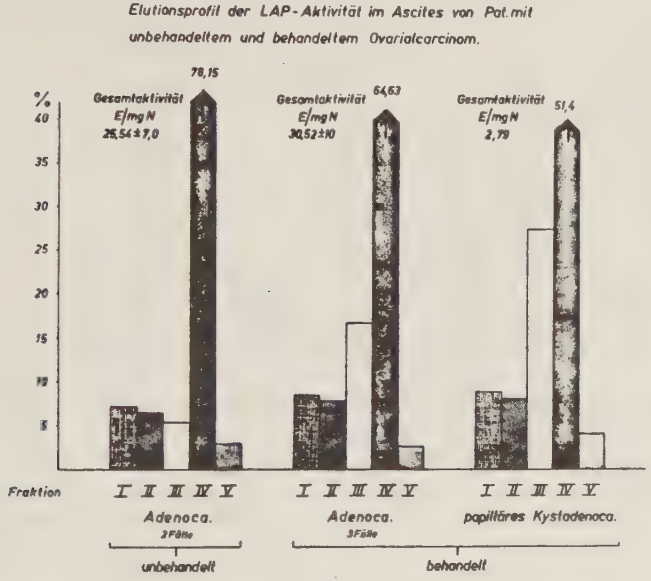
Tab. 3

Die prozentuale Verteilung der LAP-Aktivität auf die 5 Fraktionen im Cytoplasma

Name	Gesamtaktiv. E/mg N	Fraktionen I	II	III	IV	V
Lucia H.	266.60	13.0 %	1.30 %	0 %	1.0 %	84.6 %
Josefine H. behandelt	265.90	0.9 %	3.00 %	3.1 %	0 %	93.0 %
Renate S.	644.02	13.6 %	4.7 %	8.4 %	17.5 %	55.8 %
Maria L.	500.00	2.3 %	8.8 %	10.2 %	16.5 %	62.2 %
Elisabeth Sch.	538.00	4.1 %	13.1 %	3.5 %	2.4 %	76.9 %
Elisabeth S.	783.70	3.8 %	1.8 %	1.1 %	4.2 %	89.0 %
Elisabeth H.	500.00	4.8 %	6.1 %	18.0 %	13.8 %	57.0 %
Lina S.	528.20	3.7 %	15.3 %	5.4 %	1.0 %	74.6 %
Martha Sch.	615.10	0 %	1.1 %	0 %	8.4 %	90.5 %

Analog dazu zeigt Abb. 7 das Elutionsprofil der LAP-Aktivität im Ascites von Patientinnen mit unbehandeltem (2) und behandeltem (4) Ovarialcarcinom.

Abb. 7



Tab. 4

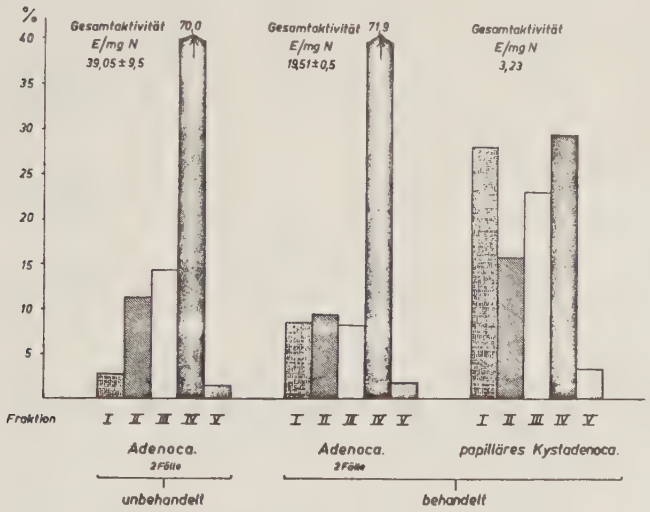
Die prozentuale Verteilung der LAP-Aktivität auf die 5 Fraktionen im Aszites

Name	Gesamtaktiv. E/mg N	Fraktionen I	II	III	IV	V
Lucia H.	2.79	8.9 %	8.0 %	27.4 %	51.4 %	4.0 %
behandelt						
Elisabeth K.	20.89	9.8 %	13.9 %	35.4 %	37.3 %	3.5 %
Walburga L.	40.83	4.6 %	1.6 %	3.4 %	89.4 %	1.0 %
Barbara B. 23.9.66	29.85	9.8 %	8.1 %	11.6 %	67.2 %	3.3 %
unbehandelt						
Barbara B. 23.5.66	20.65	6.0 %	4.4 %	2.1 %	83.4 %	4.0 %
Elisabeth H.	30.40	8.4 %	8.6 %	8.5 %	72.9 %	1.5 %
Elisabeth S.	11.22	57.0 %	1.2 %	4.6 %	33.8 %	3.3 %
Edith A.	5.95	11.5 %	28.0 %	14.9 %	45.5 %	0 %
Maria G.	12.90	14.2 %	13.0 %	29.8 %	35.2 %	7.6 %

Folgende graphische Darstellung der LAP-Aktivität zeigt das Elutionsprofil im Serum von Patientinnen mit behandeltem (3) und unbehandeltem (2) Ovarialcarcinom.

Abb. 9

Elutionsprofil der LAP-Aktivität im Serum von Pat. mit unbehandeltem und behandeltem Ovarialcarcinom.



Zum Vergleich der Höhe und der Elutionsprofile der LAP-Aktivität in Cytoplasma, Serum und Ascites soll der Fall einer Patientin mit Adenocarcinom des Ovars dienen.

Tab. 6

	Gesamtaktiv. E/mg N	Fraktionen I	II	III	IV	V
Cytoplasma	530.00	4,8 %	6,1 %	18,0 %	13,8 %	57,3 %
Serum	20,39	3,7 %	5,3 %	29,0 %	56,3 %	5,7 %
Ascites	30,44	8,4 %	8,6 %	8,5 %	72,9 %	1,6 %

Tab. 5

Die prozentuale Verteilung der LAP-Aktivität auf die 5 Fraktionen im Serum

Name	Gesamtaktiv. E/mg N	Fraktionen I	II	III	IV	V
Lucia H.	3.23	28.1 %	15.9 %	23.1 %	29.6 %	3.24 %
behandelt						
Barbara B. 23.9.66	19.83	16.0 %	9.1 %	6.6 %	66.0 %	2.1 %
Elisabeth K.	19.2	1.0 %	10.0 %	9.7 %	77.8 %	1.5 %
unbehandelt						
Barbara B. 27.5.66	45.73	1.2 %	13.9 %	14.3 %	68.9 %	1.5 %
Walburga L.	32.37	4.5 %	8.6 %	14.5 %	71.1 %	1.1 %
Maria G.	27.87	0.6 %	21.4 %	22.5 %	50.4 %	4.9 %
Edith A.	12.92	12.7 %	8.5 %	33.2 %	39.5 %	5.9 %
Elisabeth H. 29.9.66	20.39	3.7 %	5.3 %	29.0 %	56.0 %	5.7 %
Elisabeth H. 7.10.	33.98	12.0 %	18.4 %	25.2 %	55.3 %	2.4 %
Elisabeth S.	7.58	0 %	87.0 %	0 %	12.9 %	0 %

Tabelle 7 zeigt die starke Variation der Elutionsprofile der 4 Metastasen.

Tab. 7

Name	Gesamtaktiv. E/mg N	Fraktion I	II	III	IV	V
Maria Sch.	1 680.000	0.92 %	8.32 %	2.84 %	87.89 %	-
Elisabeth H. (Isthmus)	948.387	4.44 %	26.6 %	0 %	8.88 %	60.0 %
Elisabeth H. (Corpus)	1 516.813	0 %	71,6 %	28.35 %	-	-
Elisabeth S.	262.500	6,75 %	17,06 %	17.39 %	25.84 %	32.9 %

Um zu zeigen, daß die erhaltenen Elutionsprofile nicht durch die LAP der Erythrocyten zustande kommen, wird in Tab. 8 zum Vergleich das Elutionsprofil der gewaschenen Erythrocyten gezeigt.

Tab. 8

Name	I	II	III	IV
Therese W.	36.3 %	4.8 %	12.6 %	25.2 %
M.	29.1 %	0 %	7.4 %	39.0 %

3. Höhe der spezifischen Aktivitäten:

Tabelle 9 zeigt die Höhe der spez. Aktivitäten in Zytoplasma, Ascites, Serum und Metastasen.

Tab. 9

Gewebe:

Name	Alter	Histologie	E/mg N
Josefine H. (behandelt mit Endoxan)	70 J.	Adenoca.ov.	265.90
Maria L.	72 J.	"	500.00
Lina S.	66 J.	"	528.205
Elisabeth H.	42 J.	"	530.00
Elisabeth Sch.	50 J.	"	538.00
Martha Sch.	55 J.	"	615.118
Renate S.	52 J.	"	644.021
Lucia H.	63 J.	Kystadenom	266.600
Elisabeth S.	70 J.	solid wachs. Ca.	783.70

Metastasen:

Name	Alter	Histologie	E/mg N
Maria Sch.	68 J.	Adenoca des colons	1 680.000
Elisabeth H. (Isthmusbereichs-metastase)	42 J.	Adenoca.ov.	948.387
Elisabeth H. (Corpusbereichs-metastase)	42 J.	"	1 516.813
Elisabeth S. (Netzgewebemetastase)	70 J.	solid wachs. Ca.	262.500

Ascites:

Name	Alter	Histologie	E/mg N
Maria G.	62 J.	Adenoca.ov.	12.904
Elisabeth H.	42 J.	" "	30.440
Barbara B.	65 J.	" "	20.653
Barbara B. (behandelt mit Endoxan u. Röntgen)	65 J.	" "	29.854
Walburga L. (behandelt mit Endoxan u. Röntgen)	56 J.	" "	40.830
Lucia H.	63 J.	Kystadenom	2.785
Edith A.	30 J.	Leio-Myo-Sarkom	5.948
Elisabeth S.	70 J.	solid wachs. Ca.	11.223
Elisabeth K. (behandelt mit Endoxan u. Röntgen)	68 J.	" " "	20.891

Erythrocyten:

Name	Alter	Histologie
Therese W.	41 J.	Ovarialca.
M.		"

Serum:

Name	Alter	Histologie	E/mg N
Maria G.	62 J.	Adenoca.ov.	27.874
Walburga L.	56 J.	" "	32.376
Elisabeth H.	42 J.	" "	20.387
Elisabeth H. (1 Woche nach der Operation)	42 J.	" "	33.98
Barbara B. (behandelt mit Endoxan)	65 J.	" "	45.734
Barbara B. (behandelt mit Endoxan u. Röntgen)	65 J.	" "	19.83
Lucia H.	63 J.	Kystadenom	3.225
Edith A.	30 J.	Leio-Myo-Sarkom	12.924
Elisabeth K. (behandelt mit Endoxan u. Röntgen)	68 J.	solid wachs. Ca.	19.2
Elisabeth S.	70 J.	" " "	7.585

DISKUSSION

Bei dem Untersuchungsmaterial -Serum, Ascites, Ovarialgewebe- ließ sich säulenchromatographisch eine Aufteilung in 5 Fraktionen vornehmen. Auch MAHLER fand bei der Fraktionierung von Schweineovar unter gleichen Bedingungen 5 Fraktionen (31). Bei den Metastasen war eine solche Aufgliederung nicht vorhanden.

Zytoplasma:

Es erfolgte eine Auftrennung in 5 Fraktionen. Der prozentuale Anteil der 5. Fraktion an der Gesamtaktivität war in allen Fällen am höchsten. Es bestand keine Beziehung zwischen histologischem Befund und dem LAP-Verteilungsmuster der übrigen Fraktionen. Beim unbehandeltem Kystadenom lag die spezifische Aktivität am niedrigsten (266,60 E/mg N_2). Deutlich unterschied sich davon das unbehandelte Adenocarcinom (590 E/mg N_2).
Nur ein Fall war vor der Operation mit Endoxan behandelt worden. Die Aktivität lag hier wesentlich niedriger (265 E/mg N_2) als bei den übrigen Fällen der gleichen histologischen Gruppe.

Metastasen:

Die 4 untersuchten Metastasen variierten im Bezug auf die Anzahl der Gipfel erheblich voneinander. Eine Beziehung zwischen der Histologie des Primärtumors und der Metastase im Bezug auf die Höhe der spezifischen Aktivität und der prozentualen Verteilung auf die Fraktionen ließ sich nicht feststellen.

Ascites:

Es erfolgte eine Auftrennung in 5 Fraktionen. Der prozentuale Anteil der 4. Fraktion an der Gesamtaktivität war bei allen untersuchten Fällen am höchsten. Eine Beziehung zwischen histologischem Befund und dem Verteilungsmuster der übrigen 4 Fraktionen ließ sich nicht darstellen. Die Höhe der spezifischen ist beim Kystadenom wesentlich niedriger als beim Adenocarcinom. Ein Einfluß der Behandlung mit Röntgenstrahlen und Cytostatika war nicht festzustellen.

Serum:

Es erfolgte eine Auftrennung in 5 Fraktionen. Der prozentuale Anteil an der Gesamtaktivität ist in der 4. Fraktion am höchsten. Es läßt sich ein unterschiedliches Verteilungsmuster der übrigen Fraktionen feststellen, das zum histologischen Befund in Bezie-

hung gesetzt werden kann.
Beim unbehandelten Adenocarcinom (2 Fälle) ist eine hohe Aktivität neben der 4. Fraktion auch in der 3. Fraktion zu finden.
Bei dem solid wachsenden Carcinom (2 Fälle) liegen die höchsten Gipfel in der 2. und 4. Fraktion.
Beim Kystadenom (1 Fall) sind in der 1. und 4. Fraktion die höchsten Aktivitäten zu finden, und beim Leio-Myo-Sarkom fanden wir die 2. und 3. Fraktion erhöht.
Die spezifische Aktivität liegt beim Kystadenom am niedrigsten (3,225 E/mg N/h), es folgte das solid wachsende Carcinom (7,585 E/mg N/h und 19,2 E/mg N/h). Das Leio-Myo-Sarkom liegt in unserem Fall mit 12,924 E/mg N/h zwischen den Werten des solid wachsenden Carcinoms. Die höchste spezifische Aktivität fanden wir im unbehandeltem Adenocarcinom (30,060 E/mg N/h)(Mittelwert).
Es erhob sich die Frage, ob ein Einfluß der Behandlung (Cytostatika oder Großleibfeldbestrahlung) an der Höhe der sog. LAP-Aktivität festzustellen ist. Nach JUNG erhöht sich unter dem Einfluß von Cytostatika die proteolytische Aktivität (26). Wir fanden beim solid wachsenden Carcinom (2 Fälle) zwei unterschiedliche spezifische Aktivitäten, wobei der mit Endoxan und Röntgenbestrahlung behandelte Fall um das Doppelte höher ist als der unbehandelte Fall.

Von 2 Patientinnen wurde zweimal in gewissem Abstand das Serum untersucht:
Elisabeth H., 42 J., Adenocarcinoma ovarii
Es zeigt sich, daß der Wert für die Serum-LAP-Aktivität unmittelbar nach der Operation sehr gering war, eine Woche später aber um 50 % höher lag. Es ist möglich, daß das auf den Einfluß des bei der Operation in die Bauchhöhle gebrachten E 39 zurückzuführen ist. Andererseits fanden GOLDBARG (18) , daß bei einer signifikanten Zahl von Patienten mit ausgedehnten metastatischen Carcinomen die LAP-Aktivität ansteigt. Diese Beobachtung könnte auch in unserem Fall zutreffen.

Barbara B., 65 J., Adenocarcinoma ovarii
Nach der ersten Endoxan-Behandlung lag der Serum-LAP-Wert sehr hoch (45,734 E/mg N/h). Nach 4 Monaten, in denen die Behandlung mit Endoxan und Großleibfeldbestrahlung erfolgte, war die Aktivität auf die Hälfte gesunken. Eine Begründung für dieses Verhalten ist aufgrund der einschlägigen Literatur und unseren Untersuchungen nicht möglich.

Erythrocyten:

Das von uns verarbeitete Gewebe enthielt hämolysiertes Blut. Um sicherzugehen, daß die von uns aufgezeigten LEUNA-spaltenden Enzymfraktionen nicht aus den Erythrocyten herzuleiten sind, haben wir gewaschene, homogenisierte Erythrocyten in gleicher Weise wie das Zytoplasma fraktioniert. Es fanden sich 4 Fraktionen, deren prozentuale Verteilung nicht der des Gewebes entsprach. Auch lag die spezifische Aktivität erheblich niedriger als im Cytoplasma. Somit ist kein wesentlicher Einfluß der in den Erythrocyten lokalisierten, LEUNA-spaltenden Enzyme auf die Verteilung der von uns im Zytoplasma gefundenen LEUNA-spaltenden Enzymgruppen festzustellen.

Vergleich der spezifischen Aktivitäten von Serum, Ascites, Zytoplasma und Metastasen:

In der Reihenfolge Serum, Ascites, Zytoplasma, Metastasen steigt die spezifische Aktivität (siehe auch Tab. 6 und Nr. 6 des Literaturverzeichnisses).
Ein Vergleich der Elutionsprofile zeigt, daß im Serum und Ascites der prozentuale Anteil der 4. Fraktion an der Gesamtaktivität am höchsten ist, im Zytoplasma dagegen die 5. Fraktion den größten Anteil an der Gesamtaktivität hat. Das läßt den Schluß zu, daß die gleiche LEUNA-spaltende Enzymgruppe im Serum und Ascites vorherrschend ist. Sie unterscheidet sich von der größten LEUNA-spaltenden Enzymgruppe des Zytoplasmas. Die Verschiedenartigkeit der LEUNA-spaltenden Enzyme ist auch durch andere Arbeiten bekannt (2, 22, 37).

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden 10 Seren, 9 Ascites, 9 Ca-Gewebe und 4 Ca-Metastasen auf das Verhalten der sog. LAP hin untersucht.
Die Substrate wurden nach entsprechender Vorbehandlung auf eine DEAE-Sephadex-Säule aufgetragen und in einem Stufenelutionsverfahren fraktioniert.
Im Serum, Ascites und Zytoplasma ließ sich eine Auftrennung in 5 Fraktionen darstellen.
Der prozentual höchste Anteil an der Gesamtaktivität lag beim Serum und Ascites in der 4., beim Zytoplasma in der 5. Fraktion.
Eine Beziehung zwischen histologischem Befund und der spezifischen Aktivität fand sich bei Serum und Zytoplasma.
Das unterschiedliche Verteilungsmuster der sog. LAP in der 1., 2., 3. und 5. Fraktion ließ sich beim Serum auch mit unterschiedlichen histologischen Befunden erklären.
Der Einfluß einer Cytostatikabehandlung oder Großleibfeldbestrahlung auf die Höhe der spezifischen Aktivität und das Verteilungsmuster der sog. LAP ließ sich nicht nachweisen. Eine Verfälschung des Verteilungsmusters der sog. LAP im Gewebe durch hämolysiertes Blut konnte ausgeschlossen werden. In der Reihenfolge Serum, Ascites, Cytoplasma, Metastasen nahm die spezifische Aktivität der sog. LAP zu.

LITERATURVERZEICHNIS

1) Allan, M.S., and A.T. Hertig: Carcinoma of the Ovary. Amer.J.Obstet.Gynec. 58, 640 (1949)

2) Behal, F.J., C.B. Kanavage, and R.D. Hamilton: Separation of Leucylaminopeptidase Components in Normal Human Sera by DEAE-Cellulose Column Chromatography. Proc.Soc.exp. Biol. (N.Y.) 109, 411 (1962)

3) Behal, F.J., R.D. Hamilton, C.B. Kanavage, and E.C. Kelly: Studies on Aminopeptidase in Human Blood. Arch.Biochem. 100, 308 (1963)

4) Bergmann, M.: Advances in Enzymology. Vol. 2, 49 (1942), Interscience Publishers Inc., New York

5) Bergmeyer, H.U.: Methoden der enzymatischen Analyse. 733 (1962), Verl. Chemie, Weinheim/Bergstr.

6) Blackwood, C.E., I. Mandl, and M.E. Long: Proteolytic Enzymes and Their Inhibitors in Human Gynecological Tumors. Amer.J.Obstet.Gynec. 91, 419 (1965)

7) Braun-Falco, O.: Über das Verhalten der Leucin-Aminopeptidase-Aktivität im Blutserum und Blaseninhalt. II. Mitt.: Untersuchungen an Patienten mit Psoriasis, Neurodermitis diffusa, Dermatitis, Ekzem und anderen Dermatosen. Arch.klin.exp.Derm. 205, 103 (1957)

8) Braun-Falco, O., K. Salfeld und F. Braun-Falco: Über das Verhalten der Leucin-Aminopeptidase-Aktivität im Blutserum bei Patienten mit malignen Tumoren im Mund- und Halsbereich. Klin.Wschr. 37, 231 (1959)

9) Burstone, M.S.: Aminopeptidase Activity in Cancer Cells. J.Nat.Cancer Inst. 16, 1149 (1956)

10) Chan, M.: Fermentuntersuchungen im Ovar. Dissertation Tübingen 1968

11) Concustell-Bas E., y V. Villar-Palasi: Localización de enzimas en las fracciones proteinas de la sangre. Rev.esp.Fisiol. 18, 151 (1962)

12) Dixon, M., and E.C. Webb: Enzymes. 2.Ed., 226 (1964) Longmans London

13) Dubbs, C.A.: Sub-Fractionation of Human Serum Leucine-Aminopeptidase. Nature 191, 1203 (1961)

14) Fasold, H., P. Linhart und F. Turba: Einfache Derstellung hochgereinigter Leucinaminopeptidase durch präparative Elektrophorese und Chromatographie. Biochem.Z. 336, 182 (1962)

15) Fischer, R.: Über den histochemischen Nachweis der Leucinaminopeptidase im Krebsgewebe. Z.f.Krebsforsch. 63, 18 (1959)

16) Fittkau, S., D. Glässer und H. Hanson: Zur Aktivität und Spezifität der Leucinaminopeptidas in Augenlinsen. Aminosäure- und Dipeptidanilide als Substrate. Hoppe-Seyler's Z.f. Physiol.Chem. 322, 101 (1961)

17) Göggel, K.H., W. Creutzfeld und J. Murucas: Das Verhalten der Leucinaminopeptidase und anderer Enzyme im Serum bei Leber-, Gallen- und Pankreaserkrankungen. Dtsch.med.Wschr. 85, 1756 u. 1808 (1960)

18) Goldbarg, J.A., and A.M. Rutenburg: The Colorimetric Determination of Leucine-Aminopeptidase in Urine and Serum of Normal Subjects and Patients with Cancer and Other Diseases. Cancer II 83 (1958)

19) Goldbarg, J.A., E.P. Pineda, and A.M. Rutenburg: The Measurement of Activity of Leucine-Aminopeptidase in Serum, Urine, Bile and Tissues. Amer.J.clin.Pathol. 32, 571 (1959)

20) Hanson, H. und R.J. Haschen: Zur Charakterisierung der Aminopeptidasen des Blutserums. Hoppe-Seyler's Z.f.Physiol.Chem. 310, 213 (1958)

21) Hanson, H. und D. Glässer: Einfaches Verfahren zur präparativen Gewinnung hochgereinigter Leucinaminopeptidase aus Rinderaugenlinsen. Hoppe-Seyler's Z.f.Physiol.Chem. 329, 249 (1962)

22) Hanson, H., H.J. Hütter, H.G. Mannsfeld, K. Kretschmer und U.C. Sohr: Zur Darstellung und Substratspezifität einer von der Leucinaminopeptidase unterschiedlichen Aminopeptidase aus Nierenpartikeln. Hoppe-Seyler's Z.f.Physiol. Chem. 348, 680 (1967)

23) Harcourt-Webster, J.N., and N.C.H. Stott: A Histochemical Study of LAP in the Human Thyroid Gland. J.Pathol. Bac. 91, 455 (1966)

24) Jonek, J., H. Skalba, Z. Klimkiewicz, and L. Dzieciuchowicz: Leucine Aminopeptidase in the Carcinoma of the Cervix in Women. Ginekol. Polska 36, 985 (1965)

25) Jung, G.: Untersuchungen über proteolytische Enzyme des Ovariums. Habilitationsschrift Tübingen 1962.

26) Jung, G.: Enzymuntersuchungen im Ovarialcarcinom. Geburtshilfe und Frauenheilkunde 20, 771 (1966)

27) Jung, G.: Enzymes in ovary. Bibliotheca Gynaecol. 23, 1 (1965)

28) Kowlessar, O.D., L.J. Haeffner, and M.H. Sleisenger: Localization of Leucine Aminopeptidase in Serum and Body Fluids by Starch Gel Electrophorese. J.clin.Invest. 39, 671 (1960)

29) Linderstrom-Lang, K.: Über Darmerepsin. Z.f.Physiol.Chem. 182, 151 (1929)

30) Long, M. and Y.T. Hosannah: Histochemical Studies of L-Leucyl-ß-Naphthylamidase in Ovarian Epithelial Tumors. Cancer 19, 909 (1966)

31) Mahler, U.: Über die Heterogenität der sog. Leucinaminopeptidase im Ovarium vom Schwein. Dissertation Tübingen 1965

32) Meade, B.W., and S.B. Rosalki: Localization of Leucine Aminopeptidase Jsoenzymes. J.clin.Pathol. 17, 61 (1964)

33) Meoni, S., S. Meschino, G. Scalise, and F. Massari: Observations of the Clinical Significance of the LAP Activity of Serum. Minerva Med. 56, 3361 (1965)

34) Miller, Z.B., E. Naor, L. Milkovich, and W.M. Schmidt: Serum Levels of Cystine Aminopeptidase, Leucine Aminopeptidase, and Alkaline Phosphatase in Single and Twin Pregnancies. Obstet. Gynecol. 24, 707 (1964)

35) Mussa, G.C., and D. Pavesio: Behaviour of Serum L-Leucine Aminopeptidase in Dystrophic Infants. Minerva Pediat. 16, 950 (1964)

36) Nagel, W., F. Willig und F. Schmidt: Über die Aminosäurearylamidase (sog. Leucinaminopeptidase) Aktivität im menschlichen Serum. Klin.Wschr. 42, 447 (1964)

37) Nakagawa, S., and H. Tscyi: Electrophoretic Separations of Leucine Aminopeptidase and Leucyl-ß-Naphthylamide Splitting Enzyme. Clin.Chem.Acta 10, 572 (1964)

38) O'Connell, W., and J.R. Winzler: Studies of an Enzyme in Human Serum which Hydrolyses l-Leucyl-ß-Naphtyhlamide. Cancer Res. 23, 78 (1963)

39) Patterson, E.K., Hsiao Shu-Hsi, A. Keppel: Studies on Dipeptidase and Aminopeptidase. J.Biol.Chem. 238, 3611 (1963)

40) Pineda, E.P., J.A. Goldbarg, B.M. Banks, and A.M. Rutenburg: A Study on Serum Leucine Aminopeptidase. Gastroenterol. 38, 698 (1960)

41) Pruzanski, W., and J. Fischl: Evaluation of Serum Leucine Aminopeptidase Estimation; Influence of the Administration of Steroids on Serum Leucine Aminopeptidase Activity in Obstructive Diseases of the Biliary Tract. Amer.J.Med.Sci. 248, 581 (1964)

42) Rettenbach-Däubner, H. und H. Rieder: Zur diagnostischen Bedeutung der Leucinaminopeptidase.Wiener klin.Wschr. 76, 344 (1964)

43) Santoni, G.: Urinary LAP Activity During Malignant Neoplasm of the Female Genital Aparatus. Ann. Obstet.Genecol. 87 795 (1965)

44) Schobel, B.W. und F. Wewalka: Die Heterogenität der LAP, Untersuchungen von Organen und Serum bei Leber-, Gallen- und Pankreaserkrankungen. Klin.Wschr. 40, 1048 (1962)

45) Schobel, B., N. Steffenelli und F. Wewalka: Über die sog. Leucinaminopeptidase der Duodenalschleimhaut und des Duodenalsaftes. Klin.Wschr. 42, 628 (1964)

46) Schwägerle, G.: Glycylglycin-Dipeptidase und Leucinaminopeptidase im Ovar des Menschen und des Schweines. Dissertation Tübingen 1963

47) Smith, E.E., E.P. Pineda, and M. Rutenburg: Localization of Serum Leucine Aminopeptidase Activity by Paper Electrophoresis. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 110, 683 (1962)

48) Smith, E.E., and A.M. Rutenburg: Electrophoretic Behaviour of an Aminopeptidase of Human Tissues and Serum. Nature 197, 800 (1963)

49) Spackman, D.H., E.E. Smith, and D. Brown: Leucine Aminopeptidase. IV. Isolation and Properties of the Enzyme from Swine Kidney. J.Biol.Chem. 212, 255 (1955)

50) Sylvan, B.H., and H. Malmgreen: Tropcal Distribution of Proteolytic Activities in Some Transplanted Mice Tumors. Exp.Cell Res. 8, 575 (1955)

51) Vokurka, I., and J. Tovarek: Leucine Aminopeptidase in the Diagnosis of Internal Diseases. Casopis Lekaru Ceskych 103, 981 (1964)

52) Wayiman, T., and H. Takahashi: Agar-gel Electrophoretic Method for the Determination of LAP Isoenzymes as Applied to Serum and Organ Homogenates. Igaku To Seubutsugaku 68, 101 (1964)

53) Waldschmidt-Leitz, E. u. H. Keller: Zur Frage der Existenz einer Leucylpeptidase. Hoppe-Seyler's Z.Physiol.Chem. 309, 228 (1957)

54) Wintersberger, E. u. H. Tuppy: Zonenelektrophorese von Aminopeptidase im Stärkegel. Mh.Chem. 91, 406 (1960)

55) Zsolnai, B., J. Somogyi, Z. Szarvar, and E. Puskas: The Role of the Proteolytic Enzymes in Pregnancy. The Behaviour of LAP in Serum and Placenta. Acta Chir.Acad.Sci.Hung. 5, 207 (1964)

LEBENSLAUF

Am 2. März 1944 wurde ich, Kristin Pache, als drittes Kind des Kaufmanns Wilhelm Bergmann und seiner Frau Elisabeth, geborene Sierck, in Hamburg geboren.
Meine Eltern kamen in den letzten Kriegsmonaten ums Leben, und ich wuchs mit meinen Geschwistern im Haus meines Vormunds, des Kaufmanns Otto Bornebusch in Detmold auf.
Von 1950 - 1954 besuchte ich die Volksschule, von 1954 an das Detmolder Mädchengymnasium und legte dort am sprachlichen Zweig das Abitur ab.
Ich begann mein Studium an der Universität Mainz 1963 in der philosophischen Fakultät und wechselte zum Wintersemester 1963/64 an die Universität Tübingen, wo ich mein Medizinstudium begann. Im Herbst 1964 legte ich das Vorphysikum, im Frühjahr 1966 das Physikum ab.
Im August 1966 heiratete ich den Biochemiker Walter Pache.
Im September 1967 wurde unser erstes Kind geboren.
Die vorliegende Dissertation begann ich im September 1966 an der Universitätsfrauenklinik Tübingen unter Anleitung von Oberarzt Dozent Dr. G. Jung.
Ich habe das medizinische Staatsexamen im August 1969 bestanden.